



Антипролиферативные свойства нового растительного алкалоида в отношении клеточных культур колоректального рака

С. В. Тимофеева^{1✉}, С. Ю. Филиппова¹, Т. В. Чембарова¹, Н. В. Гненная¹, И. В. Межевова¹,
Е. Ю. Златник¹, И. А. Новикова¹, И. Н. Мироненко¹, А. С. Гончарова¹,
Е. А. Дженкова¹, О. Н. Буров², О. И. Кит¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ timofeeva.sophia@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Оценить антипролиферативные свойства нового алкалоида (Р1) в отношении клеточных культур КРР НТ-29, Caco-2 и НСТ116.

Материалы и методы. В эксперименте использовались клеточные культуры КРР (НСТ116, НТ-29, Caco-2). Алкалоид (Р1) был выделен из *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb и идентифицирован с помощью методов ВЭЖХ и ядерного магнитного резонанса. Клетки инкубировали с различными концентрациями алкалоида и проводили анализ жизнеспособности клеток. Контрольным соединением являлся известный алкалоид берберин.

Результаты. В ходе эксперимента алкалоид (Р1) продемонстрировал выраженное антипролиферативное действие на все исследуемые клеточные линии колоректального рака – НСТ116, НТ-29 и Caco-2. Наиболее высокая чувствительность была выявлена у клеток линии НСТ116, где значение IC₅₀ составило 15,73 мкмоль/л при 72-часовой инкубации, что свидетельствует о значительной способности алкалоида подавлять пролиферацию этих опухолевых клеток. Кроме того, при сравнении активности алкалоида (Р1) с контрольным соединением – известным противоопухолевым алкалоидом берберином – было установлено, что (Р1) проявляет более высокую цитостатическую эффективность в культурах Caco-2 (IC₅₀^{Р1} = 54,489 ± 8,3 мкмоль/л против IC₅₀^{берб} = 193,154 ± 13,1 мкмоль/л) и НТ-29 (IC₅₀^{Р1} = 55,375±7,1 мкмоль/л против IC₅₀^{берб} = 90,22 ± 8,2 мкмоль/л).

Заключение. Результаты проведенного исследования демонстрируют, что алкалоид (Р1) обладает выраженными антипролиферативными свойствами в отношении клеточных линий колоректального рака, что свидетельствует о его значительном потенциале в качестве противоопухолевого агента. Особенно важно отметить его высокую эффективность в сравнении с известным алкалоидом берберином, что подчеркивает перспективность дальнейших исследований данного соединения. Эти данные открывают новые возможности для разработки инновационных лекарственных препаратов на основе природных соединений. В дальнейшем необходимы углубленные доклинические и клинические исследования, направленные на изучение механизмов действия алкалоида (Р1), его безопасности и эффективности *in vivo*, а также оптимизацию его фармакологических свойств для возможного применения в клинической практике.

Ключевые слова: колоректальный рак, растительный алкалоид, берберин, цитостатические свойства, клеточные культуры

Для цитирования: Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Чембарова Т. В., Гненная Н. В., Межевова И. В., Златник Е. Ю., Новикова И. А., Мироненко И. Н., Гончарова А. С., Дженкова Е. А., Буров О. Н., Кит О. И. Антипролиферативные свойства нового растительного алкалоида в отношении клеточных культур колоректального рака. Южно-Российский онкологический журнал. 2025; 6(4): 16-25.
<https://doi.org/10.37748/2686-9039-2025-6-4-2> EDN: PHKINR

Для корреспонденции: Тимофеева Софья Владимировна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных технологий, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63, E-mail: timofeeva.sophia@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>, elibrary SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599, Scopus Author ID: 57243356500

Соблюдение этических стандартов: в работе соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Исследование было одобрено Этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол №5/223 от 06.09.2024). Информированное согласие получено от всех участников исследования.

Финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания «Поиск натуральных и синтетических вторичных метаболитов растений, обладающих противоопухолевыми и иммунокорригирующими свойствами на моделях *in vitro* и *in vivo*», номер регистрации 124022100044-2 от 2024 г. Исследование выполнено с использованием оборудования ЦКП «НМИЦ онкологии» МЗ РФ (рег. №3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>).

Конфликт интересов: автор статьи Кит О. И. является главным редактором журнала «Южно-Российский онкологический журнал»; авторы статьи Дженкова Е. А. и Златник Е.Ю. являются членами редакционной коллегии журнала «Южно-Российский онкологический журнал». Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли

Статья поступила в редакцию 27.05.2025; одобрена после рецензирования 13.11.2025; принята к публикации 28.11.2025.

© Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Чембарова Т. В., Гненная Н. В., Межевова И. В., Златник Е. Ю., Новикова И. А., Мироненко И. Н., Гончарова А. С., Дженкова Е. А., Буров О. Н., Кит О. И., 2025

Antiproliferative properties of a new plant alkaloid against cellular colorectal cancer cultures

S. V. Timofeeva^{1✉}, S. Yu. Filippova¹, T. V. Chembarova¹, N. V. Gnennaya¹, I. V. Mezhevova¹, E. Yu. Zlatnik¹, I. A. Novikova¹, I. N. Mironenko¹, A. S. Goncharova¹, E. A. Dzhenkova¹, O. N. Burov², O. I. Kit¹

¹ National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

² Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation

✉ timofeeva.sophia@gmail.com

ABSTRACT

Purpose of the study. To evaluate the antiproliferative properties of the novel alkaloid (P1) against CRC cell lines HT-29, Caco-2, and HCT116.

Materials and methods. CRC cell lines (HCT116, HT-29, Caco-2) were used in the experiments. The alkaloid (P1) was isolated from *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb and identified using high-performance liquid chromatography (HPLC) and nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). Cells were incubated with various concentrations of the alkaloid, and cell viability was assessed. Berberine, a well-known anticancer alkaloid, served as the reference compound.

Results. The alkaloid (P1) demonstrated pronounced antiproliferative activity across all tested colorectal cancer cell lines – HCT116, HT-29, and Caco-2. The highest sensitivity was observed in HCT116 cells, with an IC_{50} value of 15.73 $\mu\text{mol/L}$ after 72-hour incubation, indicating a substantial inhibitory effect on tumor cell proliferation. Comparative analysis showed that (P1) exhibited greater cytostatic efficacy than berberine in Caco-2 ($IC_{50}^{(P1)} = 54.489 \pm 8.3 \mu\text{mol/L}$ vs $IC_{50}^{(\text{berb})} = 193.154 \pm 13.1 \mu\text{mol/L}$) and HT-29 cultures. ($IC_{50}^{(P1)} = 55.375 \pm 7.1 \mu\text{mol/L}$ vs $IC_{50}^{(\text{berb})} = 90.22 \pm 8.2 \mu\text{mol/L}$).

Conclusion. The findings indicate that the alkaloid (P1) possesses significant antiproliferative potential against colorectal cancer cell lines, underscoring its promise as a prospective anticancer agent. Notably, its superior efficacy compared with berberine highlights the relevance of further investigation. These results support continued development of (P1) as a basis for novel therapeutic agents. Future work should include detailed preclinical and clinical studies to elucidate its mechanism of action, evaluate safety and *in vivo* efficacy, and optimize pharmacological properties for potential clinical application.

Keywords: colorectal cancer, plant alkaloid, berberine, cytostatic properties, cell cultures

For citation: Timofeeva S. V., Filippova S. Yu., Chembarova T. V., Gnennaya N. V., Mezhevova I. V., Zlatnik E. Yu., Novikova I. A., Mironenko I. N., Goncharova A. S., Dzhenkova E. A., Burov O. N., Kit O. I. Antiproliferative properties of a new plant alkaloid against cellular colorectal cancer cultures. South Russian Journal of Cancer. 2025; 6(4): 16-25. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2025-6-4-2> EDN: PHKINR

For correspondence: Sofia V. Timofeeva – PhD in Biology, Researcher, Laboratory of Cell Technologies, National Medical Research Centre for Oncology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: timofeeva.sophia@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>, eLibrary SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599, Scopus Author ID: 57243356500

Compliance with ethical standards: the work was carried out in compliance with the ethical principles set forth in the World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, revised 2013). The study was approved by the Ethics Committee National Medical Research Centre for Oncology (protocol No. 5/223 dated 06.09.2024). Informed consent was obtained from all participants of the study.

Funding: the study was carried out with the financial support of the state assignment "Search for natural and synthetic secondary plant metabolites with antitumor and immunocorrective properties in *in vitro* and *in vivo* models", registration number 124022100044-2 from 2024. The study was carried out using the equipment of the Center for Collective Use National Medical Research Centre for oncology (registration No. 3554742, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>)

Conflict of interest: Oleg I. Kit is the Editor-in-Chief of the Journal «South Russian Journal of Cancer» and one of the authors of the article. Elena A. Dzhenkova and Elena Yu. Zlatnik has been the Member of the Editorial Board of the Journal «South Russian Journal of Cancer» and one of the authors of the article. The article has passed the review procedure accepted in the Journal by independent experts. The authors did not declare any other conflicts of interest.

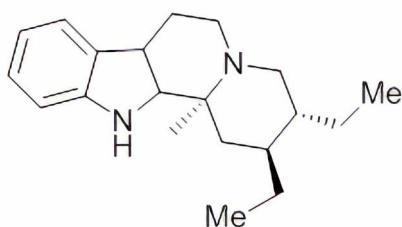
The article was submitted 27.05.2025; approved after reviewing 13.11.2025; accepted for publication 28.11.2025.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Цитостатики, используемые в онкологии, представляют собой важный класс препаратов, играющих ключевую роль в лечении различных видов рака, включая кольоректальный рак (КРР) [1]. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), заболеваемость КРР продолжает расти, что подчеркивает необходимость разработки новых цитостатических препаратов, обладающих высокой антитромиферативной активностью и низкой токсичностью [2].

В последние годы растительные алкалоиды привлекают внимание исследователей благодаря установленным у многих из них цитостатическим свойствам. Один из наиболее изученных алкалоидов – берберин – продемонстрировал способность ингибировать пролиферацию раковых клеток и вызывать апоптоз [3]. Берберин воздействует на ключевые белковые мишени сигнальных путей, регулирующих пролиферацию клеток, включая фосфатидилинозитол-3-киназу (PI3K), протеинкиназу B (Akt), мишень рапамицина у млекопитающих (mTOR) в пути PI3K/Akt, а также Raf-киназу, митоген-активируемую протеинкиназу (MEK) и экстрацеллюлярно-сигнальную регуляторную киназу (ERK) в пути MAPK. Такое воздействие позволяет рассматривать берберин как перспективное противоопухолевое средство [4].

Однако, несмотря на многообещающие результаты, берберин имеет свои ограничения, включая низкую биодоступность и возможные побочные эффекты, что может ограничивать его клиническое применение [5, 6]. В связи с этим изучение новых растительных алкалоидов становится особенно актуальным.



Chemical Formula: C₂₀H₃₀N₂
Molecular Weight: 298,4740

Рис. 1. Структурная формула соединения – (P1) из *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb.

Соединение (P1), исследованное в нашей работе, относится к индолальным алкалоидам и является структурно близким к алкалоидам, извлекаемым из растений рода *Corynanthe* sp., известным своими анальгезирующими и противовоспалительными свойствами [7] (рис. 1).

Согласно предварительным данным, он демонстрирует значительные цитостатические эффекты в отношении клеточных культур рака поджелудочной железы и немелкоклеточной аденокарциномы легкого [8]. Сравнение действия на культуры КРР нового алкалоида (P1) с берберином позволит оценить его эффективность и потенциал в качестве возможного терапевтического агента.

Цель исследования: оценить антитромиферативные свойства нового алкалоида (P1) в отношении клеточных культур КРР HT-29, Caco-2 и HCT116.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Высушенные и измельченные корневища *P. hybridus* (L.) были помещены в экстрактор Сокслета; в колбу для экстракции было залито 250 мл тетрахлорэтанта (C₂Cl₄). Экстракцию проводили при нагревании тетрахлорэтанта в экстракторе Сокслета с обратным холодильником в течение 24 ч. По окончании экстракции из 250 мл полученной смеси отогнали тетрахлорэтан, оставив в перегонной колбе 5 мл экстракта. Сконцентрированный раствор нанесли на хроматографическую колонку, заполненную силикагелем (SiO₂·H₂O). В качестве элюента последовательно использовали C₂C₁₄, CH₂Cl₂ и смесь CH₂Cl₂ и EtOH в соотношении 10:1. Структуру выделенного алкалоида (P1) подтверждал методом ядерного магнитного резонанса спектроскопии на ядрах H1 и C13 [3]. После очистки алкалоид был растворен в диметилсульфоксиде (ДМСО) (Биолот, Российская Федерация) для получения стокового раствора с концентрацией 8,8 ммоль/л. Стоковый раствор берберина (25 ммоль/л) также готовили в ДМСО из сухой соли хлорида берберина (Sigma-Aldrich, США).

В эксперименте использовали клеточные культуры КРР HT-29, Caco-2 и HCT116, полученные из коллекции Института цитологии РАН (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация), а также мононуклеарные клетки периферической крови (МНК), полученные от здоровых доноров. Клетки постоянных культур рака высаживали по 5 тыс. на лунку в 96-луночные планшеты в полной питательной сре-

де (ППС) DMEM (Servicebio, Китай), с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки (Gibco, США), 1 % глутамина («БиоЛоТ», Россия), 1 % раствора незаменимых аминокислот («БиоЛоТ», Россия), 1 % пенициллина-стрептомицина («БиоЛоТ», Россия). После адгезии клеток проводили замену среды на ППС с добавлением тестируемых алкалоидов в серии двукратных разведений: от 125 мкмоль/л до 10,12 мкмоль/л для берберина и от 44 мкмоль/л до 0,34 мкмоль/л для нового алкалоида (Р1). Клетки инкубировали в течение 24 и 72 ч при 37 °C в атмосфере с 5,0 % содержанием CO₂. В серии проведенных экспериментов были протестированы различные концентрации берберина, в результате чего нами были выявлены оптимальные значения для данного исследования [9, 10].

Клетки МНК здоровых доноров получали из венозной крови, собранной в пробирки с ЭДТА (МиниМед, Российская Федерация). В день забора кровь разводили средой RPMI1640 (Servicebio, Китай) в два раза и наслаживали на фиколл (Биолот, Россия), после чего центрифугировали 30 мин. при ускорении 730g. Далее осторожно собирали кольцо МНК, образовавшееся на границе раздела фаз, и переносили в отдельную пробирку. Полученные МНК отмывали один раз в среде RPMI1640, после чего подсчитывали и пассировали по 5 тыс. клеток на лунку 96-луночного планшета в среде RPMI1640 с добавлением 10 % фетальной бычьей сыворотки. Далее в среду вносили алкалоид (Р1) в серии двукратных разведений от 44 мкмоль/л до 0,34 мкмоль/л и инкубировали 72 ч при 37 °C в атмосфере с 5,0 % содержанием CO₂.

После инкубации в адгезионных культурах и МНК определяли количество живых и мертвых клеток путем прямого подсчета после окрашивания ядер смесью красителей Hoescht 33342 (1 мг/мл) (ThermoFisher, США) и этидия бромида (10 мг/мл) (Servicebio, Китай). Визуализацию результатов осуществляли с помощью имиджера LionheartFX (BioTek, США), а подсчет окрашенных ядер проводили в программном обеспечении Gen5 (BioTek, США). Жизнеспособность клеток рассчитывали как отношение числа живых клеток в опыте с добавлением тестируемого соединения к количеству живых клеток в контроле, выраженное в процентах. Для каждого варианта опыта было заложено по 8 повторов, и эксперимент повторяли трижды. Результаты представлены как среднее значение ± SD.

Достоверность различий между средними значениями жизнеспособности определяли с помощью t-критерия Стьюдента с учетом поправки Бонферрони. Построение кривых доза-ответ и определение показателя половинной ингибирующей концентрации (IC₅₀) производили с помощью онлайн инструмента IC₅₀ Calculator («Quest Graph™ IC₅₀ Calculator.»AAT Bioquest, Inc., 13 Feb. 2025, <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По результатам исследования было установлено, что алкалоид (Р1) проявляет специфическое антипролиферативное действие в отношении исследованных культур злокачественных клеток. Инкубация с 44 мкмоль/л (Р1) в течение 72 ч привела к увеличению содержания мертвых клеток по сравнению с контролем без воздействия в > 30 раз в культуре НСТ116, в 7,55 раз – в культуре Caco-2 и в 6,37 раз – в культуре НТ-29, что было достоверно выше, чем в культуре МНК здоровых доноров для той же концентрации (2,5 раза) (рис. 2А). Снижение концентрации тестируемого соединения (Р1) сопровождалось сокращением достоверной разницы исследованных показателей между культурами злокачественных и нормальных клеток. Так, при инкубации с 22 мкмоль/л (Р1) содержание мертвых клеток по сравнению с контролем было достоверно выше в двух культурах – НСТ116 (7,59 раз) и Caco-2 (3,41 раз), чем в культуре МНК (2,03 раз), но не в культуре НТ-29 (2,22 раз). Наконец, при инкубации с 11 мкмоль/л тестируемого алкалоида разница в данном показателе осталась достоверной только между культурами МНК (1,09 раз) и Caco-2 (1,72 раза).

Цитостатическая активность алкалоида (Р1) в отношении клеточных культур КРР варьировала в достаточно узких пределах. При экспозиции 24 ч значение половинной ингибирующей концентрации IC₅₀ было наименьшим для культуры НСТ116 (IC₅₀ = 51,98 ± 4,8 мкмоль/л) и наибольшим для НТ-29 (IC₅₀ = 55,375 ± 7,1 мкмоль/л). При экспозиции 72 ч наименьшее значение данного параметра также продемонстрировала культура клеток НСТ116 (IC₅₀ = 15,73 ± 3,2 мкмоль/л), а наибольшее – культура клеток Caco-2 (IC₅₀ = 32,505 ± 9,2 мкмоль/л), с небольшим отличием от культуры клеток НТ-29 (IC₅₀ = 29,075 ± 7,4 мкмоль/л). При этом на графике доза–ответ наблюдали во всех клеточных линиях

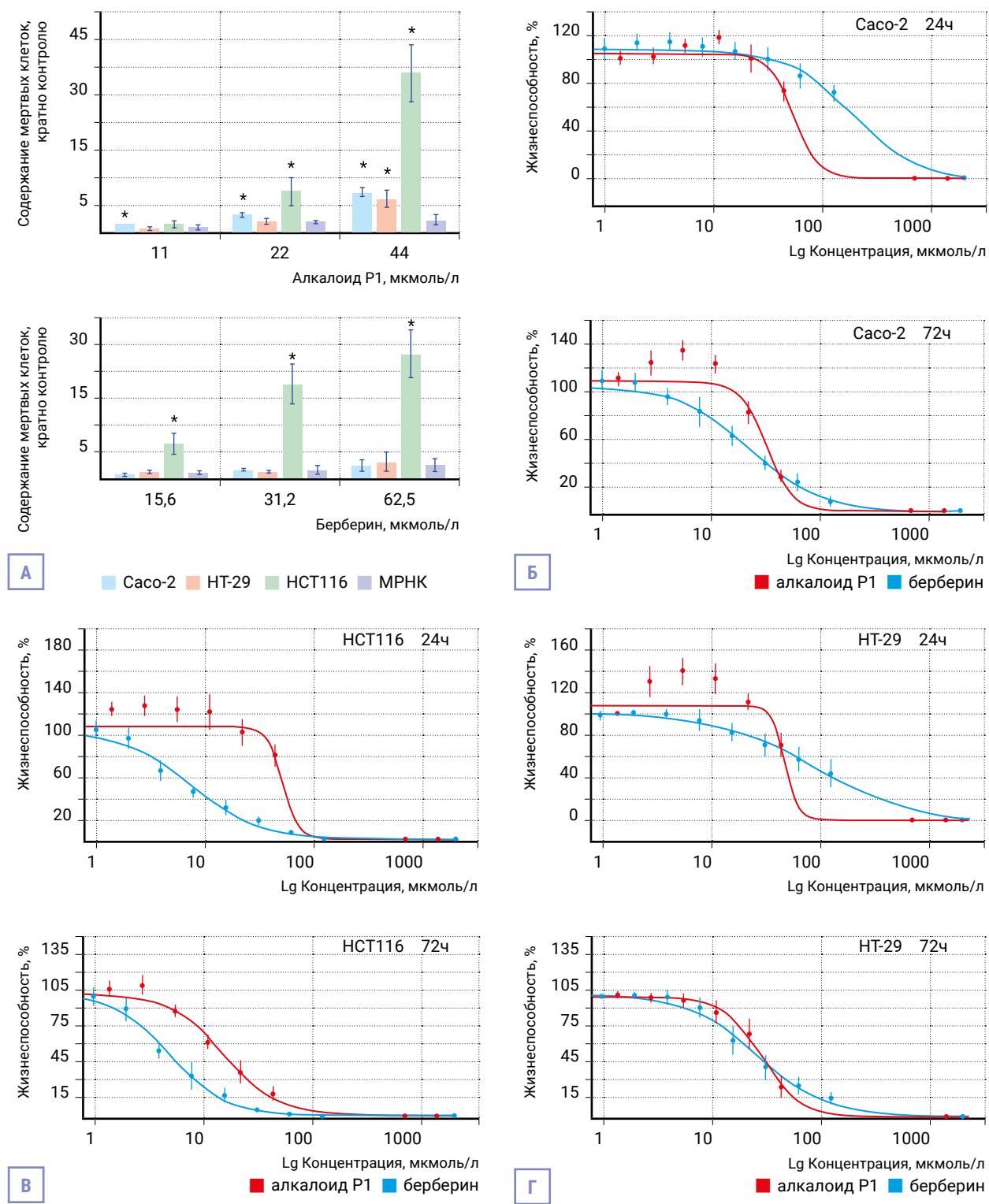


Рис. 2. Антипролиферативное и цитостатическое действие алкалоида (Р1). А – сравнение антипролиферативного действия берберина и алкалоида (Р1) в отношении культур КРР и МНК здоровых доноров, экспозиция 72 ч; Б – кривые «доза–ответ» для культуры Сасо-2; В – кривые «доза–ответ» для культуры HCT116; Г – кривые «доза–ответ» для культуры HT-29.
* – разница между показателями в культуре КРР и МНК при соответствующей концентрации (Р1) достоверна, $p < 0,05$.
МНК – мононуклеарные клетки крови.

явление гормезиса – увеличение жизнеспособности при низких концентрациях алкалоида Р1. При экспозиции 24 ч, гормезис проявился в культурах НСТ116 и НТ-29 (рис. 2В, Г), однако в культуре Сасо-2 данное явление было более выраженным при экспозиции 72 ч (рис. 2Б).

Чувствительность исследованных культур КРР к антипролиферативному действию берберина варьировала в более широких пределах, чем в опытах с (Р1). Так, значение IC_{50} для берберина при экспозиции 24 ч было наименьшим в культуре НСТ116 ($IC_{50} = 7,43 \pm 2,4$ мкмоль/л) и наибольшим в культуре Сасо-2 ($IC_{50} = 193,154 \pm 13,1$ мкмоль/л) с промежуточным значением в культуре НТ-29 ($IC_{50} = 90,22 \pm 8,2$ мкмоль/л). При экспозиции 72 ч половинная ингибирующая концентрация берберина также была наименьшей в культуре НСТ116 ($IC_{50} = 4,94 \pm 1,2$ мкмоль/л), а наибольшей – в культуре НТ-29 ($IC_{50} = 26,269 \pm 4,5$ мкмоль/л) с небольшим отличием от культуры Сасо-2 ($IC_{50} = 23 \pm 3,1$ мкмоль/л).

Сравнение антипролиферативных свойств двух тестируемых алкалоидов между собой показало, что при экспозиции 24 ч (Р1) проявил более высокую цитостатическую активность, чем берберин, в культурах Сасо-2 ($IC_{50}^{P1} = 54,489 \pm 8,3$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 193,154 \pm 13,1$ мкмоль/л) (рис. 2Б) и НТ-29 ($IC_{50}^{P1} = 55,375 \pm 7,1$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 90,22 \pm 8,2$ мкмоль/л) (рис. 2Г). В культуре НСТ116, наоборот, половинная ингибирующая концентрация берберина была почти на порядок меньше, чем значение данного показателя для (Р1) ($IC_{50}^{P1} = 51,98 \pm 4,8$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 7,43 \pm 2,4$ мкмоль/л). При длительной экспозиции значения показателя IC_{50} между алкалоидами в культурах Сасо-2 и НТ-29 сближались: для Сасо-2 $IC_{50}^{P1} = 32,505 \pm 9,2$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 23 \pm 3,1$ мкмоль/л, и для НТ-29 $IC_{50}^{P1} = 29,075 \pm 7,4$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 26,269 \pm 4,5$ мкмоль/л. В культуре НСТ116 при экспозиции 72 часа более высокая чувствительность к берберину по сравнению с (Р1) сохранялась ($IC_{50}^{P1} = 15,73 \pm 3,2$ мкмоль/л против $IC_{50}^{berb} = 4,94 \pm 1,2$ мкмоль/л).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о возможности индукции дозозависимой гибели клеток adenокарциномы толстого кишечника различных линий в культуре под действием исследуемого алкалоида, выделенного из белокопытника гибридно-

го *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb. Цитотостатическое действие (Р1) связано не только с концентрацией, но и с экспозицией – наиболее выраженной при 72-часовой инкубации культур с соединением.

По данным нашего исследования, культура НСТ116 проявила повышенную, по сравнению с культурами Сасо-2 и НТ-29, чувствительность к соединению (Р1) и берберину. Эти результаты подчеркивают важность выбора клеточной линии для оценки эффективности новых противоопухолевых веществ, в связи с их различной чувствительностью к терапии.

Использованные культуры КРР имеют разные молекулярные и метаболические характеристики, чем могут быть обусловлены полученные различия, определяющие их разную чувствительность к алкалоиду (Р1) и берберину. Так, они различаются по чувствительности к схеме FOLFOX и к гипоксии (НСТ116 более чувствительна, чем НТ-29), что, возможно, связано с тем, что линия НТ-29 дефицитна по p53, а НСТ116 имеет нормальный p53 статус, но при этом демонстрируют фенотип микросателлитной нестабильности [11].

Клетки линии Сасо-2 характеризуются как не имеющие активирующих мутаций в генах KRAS, NRAS, BRAF, PIK3CA; кроме того, они нечувствительны к цетуксимабу [12]. У клеток линии НТ-29 способность к дифференцировке в энтероциты выражена умеренно, а у клеток линии Сасо-2 наиболее активно. Эти линии часто используют в качестве модели опухолевого роста при исследовании абсорбции из кишечника лекарственных, токсических и других веществ [13, 14].

НСТ116 – высокоаггрессивная линия с минимальной способностью к дифференцировке, есть данные о том, что она представлена преимущественно опухолевыми стволовыми клетками [15]. В клетках этой линии выявлены гиперэкспрессия гена MDR1, вовлеченного в пролиферацию, миграцию, инвазию, химиорезистентность; последняя также связана с экспрессией в клетках НСТ116 линии генов NOX и Nrf2 [16]. Для линии НСТ116 характерна KRAS-мутация в кодоне 13, НТ-29 экспрессирует KRAS, APC [17], а также имеет мутацию V600E в гене BRAF [12].

Таким образом, различия в восприимчивости клеточных культур КРР к алкалоиду (Р1) и берберину могут объясняться разницей в молекулярно-генетическом профиле по генам KRAS, TP53 и MLH,

мутации в которых связаны с сигнальными путями RAS/RAF/MAPK и PI3K/Akt/mTOR, а также контролем клеточного цикла, апоптоза и репарацией ДНК [18, 19].

Берберин, широко известный своим противоопухолевым действием, также демонстрировал значительную цитостатическую активность в отношении клеток КРР. Механизм его действия включает ингибирование ферментов, участвующих в метаболизме глюкозы и жиров, а также модуляцию сигнальных путей, таких как путь AMPK [20]. Исследования показывают, что берберин может вызывать апоптоз через активацию каспаз и подавление протеинкиназ [21].

Были проанализированы полученные нами данные по берберину с результатами исследований других международных групп, так как наши значения показателей цитостатического действия берберина варьировали в широких пределах. В ряде исследований в зависимости от экспозиции значения IC_{50} берберина для HT-29 варьировали от 34,6 до $52,37 \pm 3,45$ мкмоль/л [22, 23], а для HCT-116 от 31 до 55,27 мкмоль/л [24–26]. Воздействие берберина в указанных дозах вызывало снижение экспрессии аквапоринов 1, 3 и 5, а также увеличение экспрессии гена PTEN в клетках культур HT-29, SW-480 и HCT116. Повышение уровня экспрессии PTEN способствовало подавлению сигнальных путей PI3K, AKT и mTOR, что привело к росту уровня апоптоза в опухолевых клетках КРР и снижению их миграционной способности, эти данные согласуются с результатами других исследователей [23].

Важным аспектом для нашей работы является то, что у HCT116 описана чувствительность к некоторым соединениям, выделенным из растений. Например, ее рост *in vitro* ограничивает флавопиридол – соединение, разработанное на основе природной молекулы путем замещения одной из групп

флавоноида на азот-содержащий гетероциклический алкалоид; у него обнаружены свойства ингибитора CDK9 киназы и противоопухолевая активность при лимфопролиферативных заболеваниях. В последние годы у клеток этой линии показана чувствительность еще к ряду соединений растительного и синтетического происхождения [26–28]. В исследовании Parry R. A. и соавт. было изучено действие на культуры КРР различных фракций, выделенных из экстракта штокрозы розовой, и выявлена более высокая чувствительность к ним в МТТ-тесте линии HCT116 по сравнению с HT-29 [29].

Данные нашего исследования подтверждают гипотезу о том, что использование нового растительного алкалоида (P1) значительно эффективнее при КРР по сравнению с берберином.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Новый алкалоид (P1), выделенный из белокопытника гибридного *Petasites hybridus* (L.) G. Gaertn., B. Mey. & Scherb, демонстрирует дозозависимое цитостатическое действие на культуры КРР, в отличие от культур МНК, влияние на которые было минимальным. Наиболее чувствительной к действию (P1) оказалась линия HCT116. Результаты нашего исследования подтверждают, что новый растительный алкалоид (P1) значительно эффективнее и обладает высоким антипопролиферативным потенциалом в отношении КРР.

Таким образом, исследование подчеркивает значимость нового растительного алкалоида (P1) как перспективного кандидата для разработки новых терапевтических стратегий против КРР. Однако для окончательных выводов необходимы дополнительные исследования, включая оценку токсичности, фармакокинетики и механизма действия нового алкалоида (P1).

Список источников

- Shi C, Yang EJ, Tao S, Ren G, Mou PK, Shim JS. Natural products targeting cancer cell dependency. *J Antibiot (Tokyo)*. 2021 Oct;74(10):677–686. <https://doi.org/10.1038/s41429-021-00438-x>
- Morgan E, Arnold M, Gini A, Lorenzoni V, Cabasag CJ, Laversanne M, et al. Global burden of colorectal cancer in 2020 and 2040: incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Gut*. 2023;72(2):338–344. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2022-327736>
- Златник Е. Ю., Енин Я. С., Буров О. Н., Бондаренко Е. С., Сагакянц А. Б., Кутилин Д. С., и др. Молекулярные аспекты воздействия вторичных метаболитов Барбариса обыкновенного и Белокопытника гибридного на клеточную линию HeLa. Исследования и практика в медицине. 2023;10(4):31–47. <https://doi.org/10.17709/2410-1893-2023-10-4-3>

4. Филиппова С. Ю., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Межевова И. В., Енин Я. С., Буров О. Н., и др. Влияние берберина на энергетический фенотип клеток линий рака молочной железы. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2021;10:42–46. EDN: CQWAKN
5. Timofeeva SV, Kit OI, Filippova SYu, Sitkovskaya AO, Mezhevova IV, Gnennaya NV, et al. Some Plant Metabolites from Petasites sp. and Their Effect on Cancer Cells Motility in vitro. Journal of Clinical Oncology. 2022;40(16):15077. https://doi.org/10.1200/jco.2022.40.16_suppl.e15077
6. Тимофеева С. В., Златник Е. Ю., Ващенко Л. Н., Енин Я. С., Непомнящая Е. М. Молекулярные механизмы влияния берберина на опухолевые клетки. Казанский медицинский журнал. 2025;106(2):267–276. <https://doi.org/10.17816/kmj643366>
7. Li J, Li JX, Jiang H, Li M, Chen L, Wang YY, et al. Phytochemistry and biological activities of corynanthe alkaloids. Phytochemistry. 2023 Sep; 213:113786. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2023.113786>
8. Межевова И. В., Филиппова С. Ю., Чембарова Т. В., Гненная Н. В., Златник Е. Ю., Новикова И. А., и др. Некоторые вторичные растительные метаболиты как перспективные кандидаты для лечения рака легкого и рака поджелудочной железы. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2024;27(9):32–40. <https://doi.org/10.29296/25877313-2024-09-05>
9. Mezhevova IV, Filippova SYu, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, Shamova TV, Enin YaS, et al. Antimigratory effect of berberine in T98G, U87MG and primary glioma cell culture. Journal of Clinical Oncology. 2021;39(S15): e15045.
10. Филиппова С. Ю., Шамова Т. В., Тимофеева С. В., Ситковская А. О., Межевова И. В., Гненная Н. В., и др. Влияние некоторых метаболитов из растений рода Petasites sp. На подвижность опухолевых клеток in vitro. Гены и Клетки. 2022;17(2):60–63. <https://doi.org/10.23868/202209009>
11. Ieranò C, Righelli D, D'Alterio C, Napolitano M, Portella L, Rea G, et al. In PD-1+ human colon cancer cells NIVOLUMAB promotes survival and could protect tumor cells from conventional therapies. J Immunother Cancer. 2022 Mar;10(3):e004032. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-004032>
12. Bovio F, Epistolio S, Mozzi A, Monti E, Fusi P, Forcella M, Frattini M. Role of NEU3 Overexpression in the Prediction of Efficacy of EGFR-Targeted Therapies in Colon Cancer Cell Lines. Int J Mol Sci. 2020 Nov 20;21(22):8805. <https://doi.org/10.3390/ijms21228805>
13. Щулькин А. В., Транова Ю. С., Абаленихина Ю. В., Есенина А. С., Слепнев А. А., Якушева Е. Н. Клетки линии Caco-2 как модель для изучения абсорбции лекарственных веществ. Экспериментальная и клиническая гастроэнтэрология. 2022;(10):63–69. <https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-206-10-63-69>
14. Hoffmann P, Burmester M, Langeheine M, Brehm R, Empl MT, Seeger B, Breves G. Caco-2/HT29-MTX co-cultured cells as a model for studying physiological properties and toxin-induced effects on intestinal cells. PLoS One. 2021 Oct 7;16(10):e0257824. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257824>
15. Yeung TM, Gandhi SC, Wilding JL, Muschel R, Bodmer WF. Cancer stem cells from colorectal cancer-derived cell lines. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Feb 23;107(8):3722–3727. <https://doi.org/10.1073/pnas.0915135107>
16. Waghela BN, Vaidya FU, Pathak C. Upregulation of NOX-2 and Nrf-2 Promotes 5-Fluorouracil Resistance of Human Colon Carcinoma (HCT-116) Cells. Biochemistry (Mosc). 2021 Mar;86(3):262–274. <https://doi.org/10.1134/s0006297921030044>
17. Ghodousi-Dehnavi E, Hosseini RH, Arjmand M, Nasri S, Zamani Z. A Metabolomic Investigation of Eugenol on Colorectal Cancer Cell Line HT-29 by Modifying the Expression of APC, p53, and KRAS Genes. Evid Based Complement Alternat Med. 2021 Nov 18;2021:1448206. <https://doi.org/10.1155/2021/1448206>
18. Tatar M, Varedi M, Naghibalhossaini F. Epigenetic Effects of Blackberry Extract on Human Colorectal Cancer Cells. Nutr Cancer. 2022;74(4):1446–1456. <https://doi.org/10.1080/01635581.2021.1952454>
19. Михаленко Е. П., Щаюк А. Н., Кильчевский А. В. Сигнальные пути: механизм регуляции пролиферации и выживаемости опухолевых клеток. Молекулярная и прикладная генетика. 2019;26:145–157.
20. Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Тимофеева С. В., Шамова Т. В., Межевова И. В., Гненная Н. В., Новикова И. А. Применение силиконового покрытия для оптимизации процесса получения клеточных сфероидов методом висячей капли. Южно-Российский онкологический журнал. 2022;3(3):15–23. <https://doi.org/10.37748/2686-9039-2022-3-3-2>
21. Тимофеева С. В., Филиппова С. Ю., Ситковская А. О., Гненная Н. В., Межевова И. В., Шамова Т. В., и др. Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей ФГБУ НМИЦ онкологии Минздрава России. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3397. <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2022-3397>

22. Li Q, Zhao H, Chen W, Huang P. Berberine induces apoptosis and arrests the cell cycle in multiple cancer cell lines. *Arch Med Sci.* 2021;19(5):1530–1537. <https://doi.org/10.5114/aoms/132969>
23. Tarawneh N, Hamadneh L, Abu-Irmaileh B, Shraideh Z, Bustanji Y, Abdalla S. Berberine Inhibited Growth and Migration of Human Colon Cancer Cell Lines by Increasing Phosphatase and Tensin and Inhibiting Aquaporins 1, 3 and 5 Expressions. *Molecules.* 2023 Apr 29;28(9):3823. <https://doi.org/10.3390/molecules28093823>
24. Samad MA, Saiman MZ, Abdul Majid N, Karsani SA, Yaacob JS. Berberine Inhibits Telomerase Activity and Induces Cell Cycle Arrest and Telomere Erosion in Colorectal Cancer Cell Line, HCT 116. *Molecules.* 2021 Jan 13;26(2):376. <https://doi.org/10.3390/molecules26020376>
25. Li P, Hao Z, Liu H, Zhu B, Dang L, Ma C, et al. Quantitative Proteomics Analysis of Berberine-Treated Colon Cancer Cells Reveals Potential Therapy Targets. *Biology (Basel).* 2021 Mar 23;10(3):250. <https://doi.org/10.3390/biology10030250>
26. Gong C, Hu X, Xu Y, Yang J, Zong L, Wang C, et al. Berberine inhibits proliferation and migration of colorectal cancer cells by downregulation of GRP78. *Anticancer Drugs.* 2020 Feb;31(2):141–149. <https://doi.org/10.1097/cad.0000000000000835>
27. Duda-Madej A, Viscardi S, Szewczyk W, Topola E. Natural Alkaloids in Cancer Therapy: Berberine, Sanguinarine and Chelerythrine against Colorectal and Gastric Cancer. *Int J Mol Sci.* 2024;25(15):8375. <https://doi.org/10.3390/ijms25158375>
28. Och A, Lemieszek MK, Cieśla M, Jedrejek D, Kozłowska A, Pawelec S, Nowak R. Berberis vulgaris L. Root Extract as a Multi-Target Chemopreventive Agent against Colon Cancer Causing Apoptosis in Human Colon Adenocarcinoma Cell Lines. *Int J Mol Sci.* 2024 Apr 27;25(9):4786. <https://doi.org/10.3390/ijms25094786>
29. Parry RA, Mir IA, Bhat BA, Hussain MU, Ashraf S, Zaman GS, et al. Exploring the cytotoxic effects of bioactive compounds from Alcea rosea against stem cell driven colon carcinogenesis. *Sci Rep.* 2025 Feb 18;15(1):5892. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89714-6>

Информация об авторах:

Тимофеева Софья Владимировна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5945-5961>, eLibrary SPIN: 5362-1915, AuthorID: 1064599, Scopus Author ID: 57243356500

Филиппова Светлана Юрьевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4558-5896>, eLibrary SPIN: 9586-2785, AuthorID: 878784, Scopus Author ID: 57189618843

Чембарова Татьяна Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4555-8556>, eLibrary SPIN: 5426-1873, AuthorID: 1051985, Scopus Author ID: 57221303597

Гненна Надежда Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3691-3317>, eLibrary SPIN: 9244-2318, AuthorID: 900758, Scopus Author ID: 57214806863

Межевова Ирина Валентиновна – младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7902-7278>, eLibrary SPIN: 3367-1741, AuthorID: 1011695, Scopus Author ID: 57296602900

Златник Елена Юрьевна – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунофенотипирования ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1410-122X>, eLibrary SPIN: 4137-7410, AuthorID: 327457, Scopus Author ID: 6603160432

Новикова Инна Арнольдовна – д.м.н., доцент, заместитель генерального директора по науке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6496-9641>, eLibrary SPIN: 4810-2424, AuthorID: 726229, Scopus Author ID: 57202252773

Мироненко Ирина Николаевна – врач-ординатор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2879-467X>, eLibrary SPIN: 4571-6413, AuthorID: 1307480

Гончарова Анна Сергеевна – д.б.н., заведующая испытательным лабораторным центром ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0676-0871>, eLibrary SPIN: 7512-2039, AuthorID: 553424, Scopus Author ID: 57215862139

Дженкова Елена Алексеевна – д.б.н., профессор, ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3561-098X>, eLibrary SPIN: 6206-6222, AuthorID: 697354, Scopus Author ID: 6507889745

Буров Олег Николаевич – к.х.н., доцент кафедры природных и высокомолекулярных соединений химического факультета ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7704-033X>, eLibrary SPIN: 5269-7656, AuthorID: 642948, Scopus Author ID: 23033004000, WoS ResearcherID: A-8428-2014

Кит Олег Иванович – д.м.н., академик РАН, профессор, генеральный директор ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>, eLibrary SPIN: 1728-0329, AuthorID: 343182, Scopus Author ID: 55994103100, WoS ResearcherID: U-2241-2017

Вклад авторов:

Тимофеева С. В. – написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи;
Филиппова С. Ю. – анализ и обработка полученных данных эксперимента;

Чембарова Т. В. – получение данных для анализа;

Гненная Н. В. – получение данных для анализа;

Межевова И. В. – получение данных для анализа;

Златник Е. Ю. – курирование эксперимента;

Новикова И. А. – курирование эксперимента;

Мироненко И. Н. – получение данных для анализа;

Гончарова А. С. – получение данных для анализа;

Дженкова Е. А. – получение данных для анализа;

Буров О. Н. – разработка и предоставление химических веществ;

Кит О. И. – курирование эксперимента.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.